

University of Groningen

Functional neuroinflammatory- and serotonergic imaging in Alzheimer's disease

Versijpt, Jan Jozef Albert

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2003

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Versijpt, J. J. A. (2003). *Functional neuroinflammatory- and serotonergic imaging in Alzheimer's disease: validation and preliminary clinical findings*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING, DISCUSSIE EN TOEKOMSTPERSPECTIEVEN

Het huidige proefschrift tracht een hulp te zijn bij de opheldering van de pathofysiologie van de ziekte van Alzheimer door middel van functionele beeldvorming met behulp van radionucliden, dit om uiteindelijk aspecten van het ziekteproces te doorgronden en finaal mogelijks het therapeutisch beleid te beïnvloeden.

De optie van functionele beeldvorming zijn het ofwel *positron emissie tomografie* (PET) ofwel *enkelvoudige foton emissie tomografie* (*single photon emission computed tomography* of SPECT) was verkozen gezien deze techniek ons in staat stelt tot een niet invasieve detectie van specifieke cellen en weefsels betrokken bij het pathofysiologisch proces, dit afhankelijk van het gekozen radioligand. Dit staat haaks tegenover de mogelijkheid van structurele beeldvorming die zich meer situeert in het in beeld brengen van (meestal specifieke) structurele veranderingen en het beschrijven van de gedetailleerde ruimtelijke relatie hiervan. Zodoende dient in het algemeen het ziekteproces reeds in een geavanceerd stadium te zijn vooraleer het kan gedetecteerd door middel van structurele beeldvormingsmodaliteiten wat aanleiding geeft tot zijn minder goede *pathofysiologische gevoeligheid* in de eerste stadia van de ziekte, wanneer anatomische veranderingen nog niet detecteerbaar zijn. Bovendien kunnen voor chronische aandoeningen zoals de ziekte van Alzheimer structurele veranderingen detecteerbaar zijn die de huidige ziekte-toestand niet correct weergeven.

Wat betreft de nieuwere structurele of metabole beeldvormingsmodaliteiten echter lijkt bijvoorbeeld *proton MR spectroscopie* meer specifiek in het in kaart brengen van het pathofysiologisch proces, dit door middel van het meten van neurocellulaire viabiliteits- of neuro-axonale integriteits- (N-acetyl-aspartaat) en gliale (choline en vooral myo-inositol) markers die, volgens sommige auteurs, in staat zijn om het antwoord op de ingestelde therapie te voorspellen en te volgen mogelijks leidend tot een geïndividualiseerde meer optimale behandeling. Evenzeer lijkt *magnetisation transfer imaging* (MTI) waardevol in het meten van de betrokkenheid van het brein in het ziekteproces en verschaft zodoende informatie over hersenschade met een verhoogde pathologische specificiteit door subtiële microscopische abnormaliteiten in het hersenweefsel te ontdekken welke nog niet gedetecteerd kunnen worden met conventionele beeldvormingsmodaliteiten. In die zin zou een verlaagde MTI ratio op een verminderde capaciteit wijzen van de macromoleculen in de membranen van het hersenweefsel om magnetisatie uit te wisselen met de omgevende watermoleculen wijzend op schade aan deze membranen. Verder kunnen coëfficiënten van waterdiffusie gemeten worden met behulp van *diffusion tensor MRI* waarbij een verhoogde waterdiffusie-coëfficiënt een desintegratie van hersenweefselcompartimenten reflecteert. Wat betreft functionele magnetische resonantiebeeldvorming (fMRI) suggereren sommige studies dat fMRI in staat zou zijn om de ziekte van Alzheimer in een vroegtijdig stadium te diagnosticeren door het detecteren van subklinische deterioraties van de geheugenfunctie waardoor het in die zin nuttig zou kunnen zijn om toekomstig geheugenverlies te voorspellen en dit vooral bij mensen met genetische of andere risicofactoren.

Het huidige proefschrift is opgedeeld in twee delen. Eén deel (hoofdstuk twee tot en met zes) behandelt de *neuro-inflammatoire hypothese*, terwijl het tweede deel (hoofdstuk zeven) de *serotonerge hypothese* bij de ziekte van Alzheimer behandelt.

In **hoofdstuk twee** wordt in een *inleidende sectie* de epidemiologie, klinische verschijnselen, pathofysiologie en de behandeling van de ziekte van Alzheimer toegelicht. Een *tweede sectie* bediscussieert drie topics.

In een eerste topic wordt de basis omtrent neuro-inflammatoire mechanismen en zijn biochemische karakteristieken, de mogelijk neurotoxische mediators tijdens de activatie van microglia (de hersenmacrofagen) en de huidige status met betrekking tot inflammatie en neurodegeneratie toegelicht. Inderdaad, in de laatste decades is ons begrip van het centraal zenuwstelsel geëvolueerd van dat van een immuun-geprivilegeerde plaats tot dat van een plaats waar inflammatie kenmerkend is voor enkele van de meeste voorkomende en tragische neurodegeneratieve aandoeningen. Inflammatie, zij het centraal of perifeer, is meestal een secundaire respons op een primair pathogeen. Bij een hoofdtrauma bijvoorbeeld is de slag op het hoofd het primaire event. Wat de neuroloog en de neurochirurg vooral zal interesseren echter is de secundaire inflammatoire respons die erop zal volgen en mogelijks meer neuronale verlies zal berokkenen dan het initieel incident. Huidig onderzoek wijst erop dat ziektes zoals multiple sclerose, beroerte en de ziekte van Alzheimer inflammatoire processen vertonen welke een bijdrage leveren tot het verlies of de dysfunctie van neuronale cellen.

Ten tweede wordt de immuungerelateerde pathogenese van de ziekte van Alzheimer grondig toegelicht. Het wordt duidelijk dat inflammatie bijdraagt tot neurodegeneratie in de ziekte van Alzheimer, dit niet enkel als een secundair fenomeen maar ook primair als een significante bron van pathologie. In die zin zou het in beeld brengen van deze inflammatie interessant zijn, ten eerste voor een bijdrage te leveren wat betreft de kennis van de pathofysiologie, ten tweede voor het selecteren van patiëntengroepen die in aanmerking zouden komen voor behandeling met (een) anti-inflammatoire therapie(ën) en ten slotte voor het opvolgen van deze patiënten tijdens deze trials met anti-inflammatoire medicatie.

Ten derde wordt de huidige stand van zaken omtrent neuro-inflammatoire beeldvormingsmodaliteiten en dit zowel structureel als vooral functioneel kritisch toegelicht en bediscussieerd. Het wordt duidelijk dat, terwijl structurele beeldvorming meestal late anatomische veranderingen van een inflammatoire respons aantoonst, functionele beeldvorming een sterke kandidaat is om de kloof tussen *in vitro* en *in vivo* kennis te dichten. In dit perspectief zijn recent een aantal radioliganden bestudeerd die ons toelaten tot het vroeg *in vivo* visualiseren van inflammatoire veranderingen en op die manier een perspectief bieden op zowel *het begrijpen* als het uiteindelijke *klinische beleid* van inflammatoire neurodegeneratieve aandoeningen.

In het licht van deze hierboven vermelde objectieven van neuro-inflammatoire beeldvorming werd een eerste poging gedaan met ^{57}Co en SPECT. Inderdaad, vroegere studies wezen erop dat ^{57}Co SPECT in staat is om inflammatoire letsels in beeld te brengen dit mogelijks door middel van de *final common*

pathway van de Ca^{2+} -homeostase-stoornis en dit zowel in neuronale degeneratie als in inflammatie. **Hoofdstuk drie** beschrijft deze poging tot het in beeld brengen van inflammatie *in vivo* in patiënten met de ziekte van Alzheimer door middel van het detecteren van ^{57}Co SPECT veranderingen en investeert of ^{57}Co SPECT in staat is tot het genereren van additionele informatie die niet vergaard kan worden door middel van conventionele beeldvormingsmodaliteiten of neuropsychologische testen. In die zin werden ^{57}Co SPECT data vergeleken met data verkregen door middel van MRI, perfusie SPECT en neuropsychologische testen en werden deze resultaten bij patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer vergeleken met deze van patiënten lijdend aan vasculaire en frontale dementie. Er wordt aangetoond dat ^{57}Co SPECT niet in staat is om regionaal verhoogde opnames en in die zin weefselverval of inflammatie in beeld te brengen en dit ongeacht van het type dementie, de ernst en de uitgebreidheid van de doorbloedingsdefecten, de aanwezigheid van atrofie op MRI noch van de resultaten van de neuropsychologische testen. In een poging om de hierboven vermelde resultaten te verklaren wordt geconcludeerd dat de beperkingen van ^{57}Co SPECT veelvuldig zijn. Door het lang fysisch halfleven van namelijk 270 dagen kan slechts een beperkte dosis geïnjecteerd worden hetgeen verantwoordelijk is voor de lage *count rate* en de resulterende lage beeldvormingsstatistieken. Bovendien is het nog steeds niet zeker of ^{57}Co specifieke aspecten van neuronale schade dan wel bloed-hersenbarrière-doorbraak in beeld brengt. In hoeverre ^{57}Co werkelijk Calcium-gemedieerde processen in beeld brengt (*in vitro* en nog belangrijker *in vivo*) en in die zin staat voor identieke moleculaire opnamemechanismen dient nog bepaald te worden, hoewel de cerebrale opname van intraveneus toegediend ^{45}Ca en ^{60}Co bij neuronale schade zeer veel gelijkaardige kenmerken vertoont. Tenslotte is de exacte cellulaire opnameplaats van de radioactiviteit nog niet gekend.

Hierna wordt de ontwikkeling en validatie van een nieuw radioligand voor de beeldvorming van neuro-inflammatoire letsels beschreven. Zo wordt gebruik gemaakt van de *perifere benzodiazepine receptor* (PBR) die in staat is om neuro-inflammatoire schade in beeld te brengen dit door middel van een upregulatie op geactiveerde microglia. Aldus zou radioactief gemerkt PK11195, een hoog-affiniteitsligand voor deze PBR, een ideale kandidaat zijn. In **hoofdstuk vier** wordt de biodistributie en dosimetrie van [^{123}I]iodo-PK11195, een potentieel SPECT radioligand beschreven bij mensen. Hiervoor worden sequentiële *whole body* opnames verricht tot 72 uur na de injectie van ^{123}I gemerkt iodo-PK11195. Meerdere bloedafnames werden verricht en de urine werd verzameld voor het meten van de fractie welke geklaard werd door het renaal systeem. Voor verval gecorrigeerde regio's van deze *whole body* opnames werden geanalyseerd en geometrisch gemiddelde activiteitsverdelingen werden gebruikt om orgaanactiviteiten te bepalen. De geabsorbeerde en de effectieve dosissen werden berekend gebruik makende van de MIRD methode. Er werd vastgesteld dat [^{123}I]iodo-PK11195 snel geklaard werd vanuit het bloed, dit hoofdzakelijk door het hepatobiliair systeem. Ongeveer 22% was terug te vinden in de urine na 48 uur. De gemiddelde orgaan-residentietijden waren 0.74, 0.44 en 0.29 uur voor de lever, bovenste dikke darm en onderste dikke darm respectievelijk. De testis ontvingen de hoogste dosis namelijk 109.4 $\mu\text{Gray}/\text{MBq}$. Alle andere organen ontvingen dosissen van minder dan 50 $\mu\text{Gray}/\text{MBq}$. De effectieve dosis was 40.3 $\mu\text{Sv}/\text{MBq}$.

Zodoende konden we concluderen dat [^{123}I]iodo-PK11195 een geschikt radioligand is voor de beeldvorming van de PBR en indirect voor de beeldvorming van neuro-inflammatoire letsels. Rekening houdend met de stralingsbelasting van 7.46 mSv na een toediening van 185 MBq kan men een [^{123}I]iodo-PK11195 onderzoek beschouwen als een ICRP risicocategorie IIB investigatie.

Hierna wordt in **hoofdstuk vijf** de validatie van radioactief gemerkt PK11195 als neuro-inflammatoir radioligand beschreven, dit door het toepassen ervan in multipale sclerose, het prototype van de neuro-inflammatoire aandoening met zijn pathofysiologische betrokkenheid van microglia. In een *inleidende sectie* wordt de historiek, epidemiologie, pathofysiologie, klinische kenmerken en ziekteverloop en de behandeling van multipale sclerose toegelicht. In een *tweede sectie* wordt de beeldvorming van geactiveerde microglia in multipale sclerose patiënten door middel van [^{11}C]PK11195 en PET bestudeerd. Hiervoor worden semi-kwantitatieve [^{11}C]PK11195 opnamewaarden berekend voor multipale sclerose patiënten en vergeleken met gezonde vrijwilligers, dit met een normalisatie ten opzichte van corticale grijze stof. Er wordt geconcludeerd dat de opname van het radioligand in gadoliniumletsels significant gestegen is in vergelijking met de opname in de normale witte stof. De opname in T2-letsels is over het algemeen verminderd, suggestief voor een PBR downregulatie. Hiertegenover staat een toename van de opnamewaarden wanneer een klinische of MRI-opstoot aanwezig is, suggestief voor een dynamisch ziekteproces met een voorbijgaande PBR-upregulatie. Tijdens de ziekteprogressie wordt een toename van de opname van het radioligand bemerkt ter hoogte van de normaal-uitziende witte stof wat erop wijst dat deze normaal-uitziende witte stof aan de grondslag ligt van het ziekteproces. Als conclusie kunnen we stellen dat [^{11}C]PK11195 PET beeldvorming een additionele waarde heeft tegenover MRI wat betreft het immunopathofysiologisch proces, en in staat is om inflammatoire processen met een microgliale betrokkenheid aan te tonen in multipale sclerose. In een derde sectie van dit hoofdstuk werd hersenatrofie en microgliale activatie opgemeten in multipale sclerose patiënten tijdens de diverse ziektestadia en werd de relatie tussen inflammatie, atrofie en klinische evaluatieschalen geïntegreerd. Er werd vastgesteld dat atrofie significant toegenomen was bij multipale sclerose patiënten in vergelijking met leeftijdsgenoten. Bovendien was er een positieve correlatie tussen hersenatrofie en zowel ziekteduur als invaliditeit, dit laatste gemeten aan de hand van de *expanded disability status scale* (EDSS). Voor de normaal-uitziende witte stof was er een gestadige toename van microgliale activatie (gemeten met behulp van [^{11}C]PK11195 PET) en de hoeveelheid atrofie, dit terwijl de microgliale activatie ter hoogte van de T₂-letsels afnam naar gelang het toenemen van de hersenatrofie. Als besluit kunnen we stellen dat hersenatrofie correleert met ziekteduur en invaliditeit en gerelateerd is aan inflammatie ter hoogte van de normaal uitziende witte stof en de T₂-letsels dit gemeten door middel van deze *PET-probe* voor microgliale activatie.

Hoofdstuk zes beschrijft de meting van microgliale activatie door middel van radioactief gemerkt PK11195 voor SPECT bij de ziekte van Alzheimer en zijn relatie met de bevindingen verkregen door perfusie SPECT en neuropsychologische testen. Hiervoor werden [^{123}I]iodo-PK11195 SPECT beelden gerealigneerd in een stereotactische ruimte waarvoor bindingspotentialen (relatief ten

opzichte van het cerebellum) berekend werden. Er werd gemiddeld een verhoogde [^{123}I]iodo-PK11195 opname vastgesteld bij patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer in vergelijking met controlepersonen en dit in bijna alle neocorticale regio's hoewel statistische significantie enkel bereikt werd in de frontale en rechter mesotemporale regio's. Directe correlaties werden gevonden tussen regionaal toegenomen [^{123}I]iodo-PK11195 opnamewaarden en cognitieve defecten. Zodoende kan men stellen dat [^{123}I]iodo-PK11195 een cellulaire marker is van de ziekteactiviteit die ons in staat stelt tot het *in vivo* evalueren van microgliale inflammatie bij de ziekte van Alzheimer. Toekomstig werk zou zowel technisch als klinisch kunnen zijn. Methodologisch zou er een directe vergelijking dienen te gebeuren tussen de PET en SPECT radioligand terwijl eveneens bruikbare methodes voor de absolute quantificatie verder gevalideerd en geïmplementeerd zouden moeten worden. Klinisch zou de inclusie van meer patiënten en dit tijdens verschillende ziektestadia, de vergelijking met proton MR spectroscopie voor de meting van gliale markers of de evaluatie van wijzigingen in de opname van dit radioligand tijdens (anti-inflammatoire) behandelingsstrategieën zeer nuttig kunnen zijn. Evenzeer zouden nieuwe radioliganden ontwikkeld kunnen worden voor neuro-inflammatoire beeldvorming, afhankelijk van de eventuele ontwikkeling van nieuwere anti-inflammatoire behandelingsmodaliteiten. Idealiter moet dit nieuw radioligand in staat zijn om snel geklaard te worden uit het bloed en andere *non-target* weefsels en dient de interactie tussen het radioligand en de receptor gekenmerkt te zijn door een hoge bindingsaffiniteit en specificiteit, zoals aangetoond door middel van autoradiografie, receptorblokkadestudies of studies met controle-agentia. Voor neuro-beeldvormingsstudies bij pathologieën zonder bloed-hersenbarrière doorbraak (zoals bij de ziekte van Alzheimer) dient het radioligand tevens in staat te zijn deze snel en eenvoudig te kunnen penetreren.

In het tweede deel van dit proefschrift (**hoofdstuk zeven**) handelend over de serotonerge hypothese van de ziekte van Alzheimer wordt de rol en de verdeling van serotonine type 2A receptoren bij gezonde controlepersonen en patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer beschreven. In een *inleidende sectie* wordt de rol van serotonine en vooral serotonine type 2A receptoren voor cognitief en niet-cognitief gedrag en zijn relatie met de ziekte van Alzheimer in het algemeen en de inflammatoire hypothese in het bijzonder kort geëxploreerd. In een *tweede sectie* wordt de beeldvorming van het 5-HT_{2A} systeem in gezonde vrijwilligers en patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer beschreven. Gebruik makende van [^{123}I]-5-I-R91150, een selectief radioactief gemerkte 5-HT_{2A} receptor antagonist en SPECT wordt de 5-HT_{2A} bindingspotentiaal in gezonde vrijwilligers en patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer berekend. Hiervoor wordt een semi-kwantitatieve analyse (relatief ten opzichte van het cerebellum) verricht, welke bindingspotentialen oplevert voor 26 corticale regio's. Er werd een leeftijdsafhankelijke afname van de neocorticale bindingspotentiaal gevonden voor gezonde vrijwilligers (11.6% per decade). In vergelijking met leeftijdsgenoten was er een algemeen gedaalde neocorticale bindingspotentiaal in patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer met een significant regionale vermindering in de orbitofrontale, prefrontale, lateraal frontale, sensorimotore, inferopariëtale en occipitale regio en de gyri cinguli. Deze resultaten zijn in overeenstemming met vroeger *post mortem*, *in vitro* en PET bevindingen. Aldus stelt deze leeftijdsafhankelijke afname de noodzaak in het licht voor *gematchte* hoogbejaarde studiegroepen.

Het feit dat de 5-HT_{2A} receptor aangetast is bij patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer in vergelijking met leeftijdsgenoten heeft implicaties voor zowel de etiologie als het therapeutisch beleid hiervan.

Zoals vermeld bij de hierboven voorgestelde resultaten leveren neuro-inflammatoire en serotonerge beeldvorming verschillende specifieke regionale veranderingen in bindingspotentiaal op voor patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer, hetgeen de vraag doet rijzen naar hun respectievelijke relatie met betrekking tot de pathofysiologie van de ziekte van Alzheimer. Jammer genoeg werd er om logistieke redenen geen enkele studie verricht waarbij zowel radioactief gemerkt PK11195 en ¹²³I-5-I-R91150 gebruikt werd bij dezelfde patiënten hoewel men kan veronderstellen dat beide populaties welke geïnccludeerd werden in deze twee studies, hoewel klein, toch representatief zijn voor een, indien ze al bestaat, *waarachtige* populatie van patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer hetgeen de verschillen in regionale bindingspotentiaalwijzigingen tot *echte verschillen* maakt als dusdanig, niet wijzend op verschillen in de geïnccludeerde patiëntenkarakteristieken maar wijzend op een verschillend aspect van de pathofysiologie van de ziekte van Alzheimer. Hiervoor zijn er minstens drie mogelijke verklaringsmodellen. Ten eerste is er de notie van de heterogeniteit van de ziekte van Alzheimer waar vragen rijzen omtrent het bestaan van de ziekte van Alzheimer als een enkelvoudige pathofysiologische entiteit. Hoewel meerdere onderzoekers getracht hebben de verschillende hypothesen betreffende de etiologie en pathofysiologie van de ziekte van Alzheimer te verenigen, zijn er toch diverse wetenschappelijke argumenten wijzend op de mogelijkheid dat er niet één *ziekte van Alzheimer* bestaat. Inderdaad, reeds vele auteurs hebben gewezen op patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer met bijvoorbeeld enerzijds verschillende neuropsychologische of klinische presentaties of anderzijds verschillende doorbloedingsstoornissen om nog maar te zwijgen over de overlap betreffende zowel risicofactoren als klinische presentatie tussen patiënten lijdend aan de ziekte van Alzheimer en patiënten lijdend aan vasculaire dementie. Ten tweede is er de optie van een chronologie in het pathofysiologisch proces van de ziekte van Alzheimer waarin verschillende hersensystemen min of meer aangetast zijn gedurende het ziekteproces. In het licht van de huidige thesis zou de hier voorgestelde opeenvolging van gebeurtenissen vooreerst de inflammatoire respons zijn, volgend op een primair event (amyloïde accumulatie, ...), hierna gevolgd door functionele neurotransmitter of meer specifiek serotonerge wijzigingen finaal gevolgd door structurele veranderingen zoals atrofie. Ten derde is er de optie van co-existentie van pathofysiologische veranderingen met een verschillende regionale gevoeligheid welke een verklaring bieden voor de verschillen in regionale bindingspotentiaalwijzigingen. Inderdaad kan men zich afvragen waarom de sensorimotore cortex relatief onaangetast is wat betreft perfusie maar zwaar aangetast betreffende het serotonine 2A systeem of bijvoorbeeld de mesotemporale regio voornamelijk aangetast is door atrofie en relatief onaangetast betreffende het serotonerge systeem.

Om deze en andere vragen te kunnen beantwoorden zou het waardevol zijn om verschillende pathofysiologische aangrijpingspunten bij dezelfde patiënten te bestuderen, bijvoorbeeld amyloïdogene, neuro-inflammatoire, cholinerge, serotonerge, perfusionele en structurele veranderingen en dit op verschillende tijdstippen van het ziekte-evolutie om zodoende in staat te zijn

de diverse pathofysiologische mechanismen te kunnen toeschrijven aan verschillende tijdstippen van het ziekteproces. Idealiter zou dit moeten gedaan worden gebruik makende van verschillende meetinstrumenten voor het evalueren van hetzelfde pathofysiologisch proces bijvoorbeeld zowel beeldvorming (structureel, functioneel en metabool), laboratoriuminvestigaties (bloed, cerebrospinaal vocht, ...) als post mortem neuropathologisch onderzoek. Dit zeker in een tijdstip waar meer en meer behandeling beschikbaar wordt om zodoende van enig nut te kunnen zijn bij de beslissing welke therapie wanneer toe te passen.

